

特許協力条約

PCT

REC'D 20 JAN 2005

WIPO

PCT

特許性に関する国際予備報告（特許協力条約第二章）

(法第12条、法施行規則第56条)
[PCT 36条及びPCT規則70]

出願人又は代理人 の書類記号 TLO-2	今後の手続きについては、様式PCT/IPEA/416を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JP03/16641	国際出願日 (日.月.年) 24.12.2003	優先日 (日.月.年) 27.12.2002
国際特許分類 (IPC) Int. C17G02B21/06, 21/14, 21/36		
出願人（氏名又は名称） 関西ティー・エル・オー株式会社		

1. この報告書は、PCT 35条に基づきこの国際予備審査機関で作成された国際予備審査報告である。
法施行規則第57条（PCT 36条）の規定に従い送付する。

2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 3 ページからなる。

3. この報告には次の附属物件も添付されている。
a 附属書類は全部で 8 ページである。
 补正されて、この報告の基礎とされた及び／又はこの国際予備審査機関が認めた訂正を含む明細書、請求の範囲及び／又は図面の用紙（PCT規則70.16及び実施細則第607号参照）
 第I欄4. 及び補充欄に示したように、出願時における国際出願の開示の範囲を超えた補正を含むものとこの国際予備審査機関が認定した差替え用紙
b 電子媒体は全部で _____ (電子媒体の種類、数を示す)。
配列表に関する補充欄に示すように、コンピュータ読み取り可能な形式による配列表又は配列表に関連するデータを含む。（実施細則第802号参照）

4. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。

第I欄 国際予備審査報告の基礎
 第II欄 優先権
 第III欄 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成
 第IV欄 発明の単一性の欠如
 第V欄 PCT 35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明
 第VI欄 ある種の引用文献
 第VII欄 国際出願の不備
 第VIII欄 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 01.04.2004	国際予備審査報告を作成した日 27.12.2004
名称及びあて先 日本国特許庁 (IPEA/JP) 郵便番号 100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官（権限のある職員） 2V 9314 里村 利光 電話番号 03-3581-1101 内線 3271

第I欄 報告の基礎

1. この国際予備審査報告は、下記に示す場合を除くほか、国際出願の言語を基礎とした。

この報告は、_____語による翻訳文を基礎とした。
それは、次の目的で提出された翻訳文の言語である。
 PCT規則12.3及び23.1(b)にいう国際調査
 PCT規則12.4にいう国際公開
 PCT規則55.2又は55.3にいう国際予備審査

2. この報告は下記の出願書類を基礎とした。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に応答するために提出された差替え用紙は、この報告において「出願時」とし、この報告に添付していない。)

出願時の国際出願書類

明細書

第 1, 4, 6-13 ページ、出願時に提出されたもの
 第 2, 2/1, 3, 3/1, 5 ページ*、09.07.2004 付けて国際予備審査機関が受理したもの
 第 ページ*、_____ 付けて国際予備審査機関が受理したもの

請求の範囲

第 3-6 項、出願時に提出されたもの
 第 ページ*、_____ 項*、PCT19条の規定に基づき補正されたもの
 第 1-2, 7 ページ*、09.07.2004 付けて国際予備審査機関が受理したもの
 第 ページ*、_____ 付けて国際予備審査機関が受理したもの

図面

第 1-5 ページ/図*、出願時に提出されたもの
 第 ページ/図*、_____ 付けて国際予備審査機関が受理したもの
 第 ページ/図*、_____ 付けて国際予備審査機関が受理したもの

配列表又は関連するテーブル

配列表に関する補充欄を参照すること。

3. 指定により、下記の書類が削除された。

明細書 第 _____ ページ
 請求の範囲 第 _____ 項
 図面 第 _____ ページ/図
 配列表 (具体的に記載すること) _____
 配列表に関するテーブル (具体的に記載すること) _____

4. この報告は、補充欄に示したように、この報告に添付されかつ以下に示した補正が出願時における開示の範囲を超えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c))

明細書 第 _____ ページ
 請求の範囲 第 _____ 項
 図面 第 _____ ページ/図
 配列表 (具体的に記載すること) _____
 配列表に関するテーブル (具体的に記載すること) _____

* 4. に該当する場合、その用紙に "superseded" と記入されることがある。

第V欄 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条 (PCT35条(2)) に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性 (N) 請求の範囲 2-7 有
 請求の範囲 1 無

進歩性 (I S) 請求の範囲 2-7 有
 請求の範囲 1 無

産業上の利用可能性 (I A) 請求の範囲 1-7 有
 請求の範囲 無

2. 文献及び説明 (PCT規則70.7)

請求の範囲 1 について

国際調査報告において引用された文献1 (JP 8-136810 A (浜松ホトニクス株式会社) 31. 5月. 1996 (31. 05. 96)) の段落【0040】及び第3図には、それぞれ異なる光軸方向位置に照明光を集光する円盤状部材360であって、該円盤状部材がそれぞれ厚さの異なる扇状部分から構成されていることが記載されている。

出願人は答弁書において、本発明は、上記文献1記載の発明と比較して、位相変更手段が共焦点スキャナーとは別個独立に設けられている点を主張しているが、本請求の範囲には別個独立とした点が反映されていないから、当該主張を採用することはできない。

したがって、本発明は依然として、上記文献1. に基づき新規性及び進歩性を有しない。

請求の範囲 2 乃至 7 について

本発明は多層観察型光学顕微鏡に係る発明であり、位相変更手段を共焦点スキャナーと別個独立に設けることによって、異なる深さの観察像を完全に切り分けて取得することができるという先行技術に対する有利な効果を有している。

したがって、本発明は先の国際調査報告において引用したいずれの文献からも自明とはいえない。

しかしながら、共焦点顕微鏡はその光軸方向の高分解能性の故に、生きた細胞や組織の三次元像をリアルタイムで捕らえるには、深さの異なるレベルを多層的に観察する必要があり、これまで標本ステージや対物レンズといった重量のあるものを動かさなければ成らなかつたため〔例えば、特許文献1（特開平06-341955号公報）、及び非特許文献1（オリンパス光学工業（株）カタログ、「走査型レーザ顕微鏡」2002年9月30日検索、インターネットURL:<http://www.nagano-it.go.jp/seimitu/setubi/se-shuuseki10/se-04laser.html>（仕様の欄））参照〕、リアルタイムでの三次元観察は不可能であった。

発明の開示

本発明の基本目的は、上記のような従来の共焦点レーザ顕微鏡を含む光学顕微鏡システムにおける三次元走査の困難性を光学的に解決した光学系構造を提供することにある。

本発明の更なる目的は、生きた組織細胞の三次元的な動態をも高速に蛍光顕微鏡観察できる光学系構造を提供することにある。

上記の目的を達成するための、第1の発明は、光源と、前記光源からの照射光を被観察試料内に集光する対物レンズと、前記光源から前記対物レンズに対し照射光線を入射させる光軸中に配置された収束／視準化レンズ対と、前記収束／視準化レンズ対の間に配置され、透過光の位相を光軸横断面の所定範囲内で変化させることによって、前記対物レンズの観察面を段階的に深度調節するための位相変更手段と、を備えていることを特徴とする多層観察型光学顕微鏡を構成したものである。

上記の基本構成によれば、位相変更手段を経て視準化レンズを出た照射光線の波面は、視準化レンズに向かう位相変更手段の状態ごとに、光軸からその光軸を横断する面内における周辺にかけて生ずる位相変位の度合が相違し、その位相変位度が大きければ、更に対物レンズに入射して結ばれる焦点の深度がそれに応じ

2 / 1

て深くなる。この深度変化の幅は、照射光線の波長に応じて広くできるが、本発

明では可視波長域で $100 \mu m$ 程度まで可能である（使用する対物レンズの N A , 倍率に依存する）。

更に、上記の目的を達成するため、第 2 の発明は、第 1 の発明の構成において、さらに、前記光源および前記収束／視準化レンズ対の間に共焦点スキャナーを備え、前記共焦点スキャナーは、前記光源側に配置されたマイクロレンズアレーディスクと、前記収束／視準化ディスク側に、前記マイクロレンズアレーディスクと同軸にこれに対向配置された複数のピンホールを有するニポウディスクと、前記マイクロレンズアレーディスクおよび前記ニポウディスクの間に配置され、光源からの照射光を透過する一方、前記被観察試料から返ってきた蛍光を反射するダイクロイックミラーとを備えるようにしたものであり、上記第 1 の発明の技術的効果は、このような共焦点顕微鏡において最もよく発揮される。

観測用光線とは、被観察試料の情報を含んだ光線であり、照射光線により励起された蛍光線あるいは反射光である。

更に、上記の目的を達成するための、第 3 の発明は、上記の基本構成における位相変更手段が、段階的に光学的特性の異なる複数の位相板セグメントを配列し、各セグメントが順次光軸を横切るように設置された回転板からなるようにしたものである。

第 4 の発明によれば、この回転板からなる位相変更手段は、各位相板セグメントの要素をなす等方性透明膜の厚さを段階的に変化させることにより、それらの光学的特性を異ならしめることができる。

更に、第 5 の発明によれば、この回転板からなる位相変更手段は、各位相板セグメントの要素をなす等方性透明膜の屈折率を段階的に変化させることにより、それらの光学的特性を異ならしめることができる。

前述した更なる目的を達成するための、第 6 の発明は、本発明を適用する光学顕微鏡の試料台の二次元走査と、前記位相変更手段の位相走査とを同期させることにより、被観察試料の三次元動態を観察できるようにしたものである。これに

3 / 1

より、蛍光観察光路の終端に配置されたCCDカメラ、例えば、既存の撮像速度1000フレーム/秒の、インテンシファイド高速CCDカメラ等によれば、生きた組織の三次元的動態などをも、高速に観察することが可能となる。

更に、標本ステージあるいは対物レンズの移動による第1の光軸方向観察位置

が正常な三次元形状と判断できる三次元の検査判定基準デジタルデータを設定する工程と、その測定された被観察試料の三次元デジタルデータと検査判定基準デジタルデータとを比較する工程とから、被観察試料が正常かどうかを判断することができる。繰り返し三次元データを測定することにより動態の検査も可能になる。

医学生物分野の試料の作製は、蛍光材料を試料に混入することにより光学的に鮮明に観察できる被観察試料を準備できる。エレクトロニクス分野の試料作成は、製造する基体表面に凹凸を形成する工程となる。

二次元データの判断のみならず、深さ方向のデータも含んだ三次元データによる検査が可能になる。半導体集積回路においてはますます表面構造が三次元化していくが、本発明の三次元検査方法により高速で検査できるようになる。

更に、第7の発明は、光学顕微鏡に組み込んで使用するものであって、段階的に光学的特性の異なる複数の位相板セグメントを円周方向に順次隣接するように配列した回転板からなり、対物レンズへの入射光軸中に配置された収束／視準化レンズ対における両レンズ間に挿入され、前記位相板セグメントの各々が順次両レンズ間の光軸を横切る際に、各セグメントごとに透過光の位相を光軸横断面の所定範囲内において、異なった度合いで変化させることによって、前記対物レンズの観察面を段階的に深度調節するものであることを特徴とする多層観察ユニットを提供するものである。

本発明の多層観察型リアルタイム光学顕微鏡、特に共焦点顕微鏡によれば、細胞や生体組織の三次元構造を、そのままの状態で高精度に観察することができる。すなわち、多層的に観察できない従来の方法では、本来三次元的な生体組織の営みを、シャーレ内での細胞培養等により二次元平面に置き換えることで可視化しているに過ぎず、生体の自然な姿を捉えているとは言いがたいものであったのに対し、本発明では、生体の営みを高速且つ立体的に可視化したものだからである。

請求の範囲

1 (補正後) . . . 光源と、

前記光源からの照射光を被観察試料内に集光する対物レンズと、

前記光源から前記対物レンズに対し照射光線を入射させる光軸中に配置された収束／視準化レンズ対と、

前記収束／視準化レンズ対の間に配置され、透過光の位相を光軸横断面の所定範囲内で変化させることによって、前記対物レンズの観察面を段階的に深度調節するための位相変更手段と、を備えていることを特徴とする多層観察型光学顕微鏡。

2 (補正後) . . . 前記光源および前記収束／視準化レンズ対の間に共焦点スキャナーを備え、

前記共焦点スキャナーは、

前記光源側に配置されたマイクロレンズアレーディスクと、

前記収束／視準化ディスク側に、前記マイクロレンズアレーディスクと同軸にこれに対向配置された複数のピンホールを有するニポウディスクと、

前記マイクロレンズアレーディスクおよび前記ニポウディスクの間に配置され、光源からの照射光を透過する一方、前記被観察試料から返ってきた蛍光を反射するダイクロイックミラーとを備えていることを特徴とする請求項1に記載の多層観察型光学顕微鏡。

3. 前記位相変更手段が段階的に光学的特性の異なる複数の位相板セグメントを配列し、各セグメントが順次光軸を横切るように設置された回転板からなることを特徴とする請求項1又は2に記載の多層観察型光学顕微鏡。

4. 前記位相変更手段が各位相板セグメントの要素をなす等方性透明膜の厚さを段階的に変化させたことにより、それらの光学的特性を異ならしめたことを特徴とする請求項3に記載の多層観察型光学顕微鏡。
5. 前記位相変更手段が各位相板セグメントの要素をなす等方性透明膜の屈折率を段階的に変化させたことにより、それらの光学的特性を異ならしめたことを特徴とする請求項3に記載の多層観察型光学顕微鏡。
6. 光学顕微鏡の試料台の二次元走査と、前記位相変更手段の位相走査とを同

期させることにより、被観察試料の三次元動態を観察できるようにしたことを特徴とする請求項1～3のいずれか1項に記載の多層観察型光学顕微鏡。

7（補正後）光学顕微鏡に組み込んで使用するものであって、段階的に光学的特性の異なる複数の位相板セグメントを円周方向に順次隣接するように配列した回転板からなり、対物レンズへの入射光軸中に配置された収束／視準化レンズ対における両レンズ間に挿入され、前記位相板セグメントの各々が順次両レンズ間の光軸を横切る際に、各セグメントごとに透過光の位相を光軸横断面の所定範囲内において、異なった度合いで変化させることによって、前記対物レンズの観察面を段階的に深度調節するものであることを特徴とする多層観察ユニット。